

تغییرات غلظت سرمی $TNF-\alpha$ موش های سرطانی بعد از یک دوره فعالیت استقامتی متوسط

مریم شرعیاتی وزیری^۱، فهیمه اسفرجانی^۲، سید جمال مشتاقیان^{۳*}، نجمه قربانی^۴

^۱دانشجو، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ ^۲گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛

^۳گروه فیزیولوژی جانوری، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛ ^۴گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۱۱

چکیده:

زمینه و هدف: شرکت در تمرینات ورزشی با تقویت سیستم ایمنی و کاهش التهاب، پتانسیل پیشگیری از سرطان پستان را دارد و می تواند ککسیا که از عارضه های سرطان در مراحل پیشرفته است را کاهش دهد. هدف پژوهش حاضر بررسی اثر یک دوره تمرینات استقامتی با شدت متوسط قبل از تشکیل تومور، بر میزان غلظت سرمی $TNF-\alpha$ و وزن بدن موش های مبتلا به سرطان پستان می باشد.

روش بررسی: ۲۴ سر موش بальب سی ماده به طور تصادفی در ۳ گروه کنترل منفی (استراحت-سالم)، کنترل مثبت (استراحت-تومور) و گروه تجربی (ورزش-تومور) توزیع شدند. گروه تجربی تمرین استقامتی مداوم را به مدت ۱۲ هفته، ۵ روز در هفته انجام دادند. شدت تمرین در هفته اول ۱۵/۴ متر بر دقیقه شروع و به تدریج در هفته آخر به ۲۳/۸ متر بر دقیقه افزایش داشت. ۲۴ ساعت پس از پایان برنامه تمرین، رده سلولی سرطانی ۴T۱ در ۲ گروه کنترل مثبت و تجربی به صورت زیر جلدی تزریق شد. پس از ایجاد تومور، میزان غلظت $TNF-\alpha$ با روش الایزا اندازه گیری شد. وزن موش ها از ابتدا تا انتهای تحقیق به صورت مکرر هر ۲ هفته یکبار اندازه گیری شد.

یافته ها: میانگین میزان $TNF-\alpha$ در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل مثبت به صورت معنی داری کاهش یافته بود ($P=0/030$)، ولی تفاوت معنی داری بین گروه تجربی و کنترل منفی مشاهده نشد. میانگین وزن موش ها در گروه تجربی نسبت به ۲ گروه کنترل منفی و کنترل مثبت در حین تشکیل تومور و ۲ هفته پس از تشکیل تومور نسبت به گروه کنترل مثبت کمتر کاهش یافته بود. سطح معنی داری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد که شرکت در تمرینات ورزشی با شدت متوسط می تواند با کاهش میزان سائتوکنین $TNF-\alpha$ و کاهش وضعیت ککسیا در پیشگیری از بروز سرطان پستان نقش داشته باشد.

واژه های کلیدی: تمرین استقامتی، عامل نکروز کننده تومور آلفا ($TNF-\alpha$)، سرطان سینه.

مقدمه:

سرطان های پستان تومورهای اپی تلیالی هستند که از سلول های پوششی مجراها یا لوبول های پستان ناشی می شوند و اصطلاحاً گیرنده آلفای استروژن ($ER\alpha$) مثبت نامیده می شوند (۳). عوامل مؤثر در ایجاد بیماری شامل ژنتیک، سطح هورمونی استروژن و پروژسترون، اضافه وزن و چاقی و همچنین زندگی بی تحرک و فعالیت بدنی کم گزارش شده است (۴).

سرطان پستان یکی از مهم ترین معضلات بهداشتی- درمانی در بین زنان است که از تکثیر بدخیم و بی رویه سلول های اپی تلیال پوشاننده مجاری یا لوبول های موجود در پستان به وجود می آید (۱). این سرطان شایع ترین نوع سرطان در زنان است و به عنوان اولین گروه سرطان های بدخیم و همچنین مهم ترین علت مرگ زنان ۴۰ تا ۴۵ سال محسوب می شود (۲). اکثر

بیش از حد این فاکتورها به مدت طولانی، منجر به کاهش کیفیت زندگی و کاهش طول عمر بیماران مبتلا به این عارضه می‌گردد (۱۰).

نظر به اینکه درمان‌های رایج از جمله جراحی، شیمی‌درمانی، رادیوتراپی و هورمون درمانی، فقط در نیمی از سرطان‌ها مؤثر بوده است، به نظر می‌رسد به توان فعالیت ورزشی را به عنوان یک درمان مکمل و عاملی جهت باز توانی بسیاری از بیماری‌های مزمن به شمار آورد (۱۱)؛ همچنین نتایج تحقیقات نشان داده‌اند که فعالیت بدنی با شدت متوسط منجر به کاهش میزان مرگ و میر ناشی از سرطان می‌شود (۱۲). بر اساس گزارش‌ها تمرینات ورزشی با تقویت سیستم ایمنی، آثار هورمونی و آنی مانند رهایی کاتکولامین‌ها، کاهش چربی بدن و چاقی، کاهش التهاب سیستمیک درجه پایین، در پیشگیری از بروز بیماری‌های التهابی مزمن از جمله سرطان نقش دارند (۱۳).

فعالیت بدنی با فراخوانی لنفویدها از ذخایر بافتی و رهایی مایوکاین‌ها، گلوکوکورتیکوئیدها و هورمون‌های ضد درد مثل انفکالین سیستم ایمنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۴)؛ همچنین نتایج مطالعات مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد فعالیت سلول‌های کشنده و فعال‌شده با لنفوکاین در موش‌های ورزشکار در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد. در موش‌های ورزشکار، کثرت تومورهای سینه‌ای نیز کمتر مشاهده شده است (۱۵). سطوح سرمی $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ برخلاف بیماری‌های التهابی، بعد از یک دوره فعالیت بدنی کاهش پیدا می‌کند، اما هنگام التهاب سیستمیک و عفونت، سطوح سایتوکین‌های پیش التهابی نظیر $TNF-\alpha$ ، $IL-1\beta$ و $IL-6$ به صورت مزمن افزایش می‌یابند (۱۶).

در تحقیقی که توسط Fallon و همکاران انجام شد، مشخص شد که ورزش منظم موجب کاهش التهاب سیستمیک در افراد سالم و ورزشکاران می‌شود. آن‌ها بر این اساس نتیجه گرفتند که با توجه به ارتباط التهاب سیستمیک با درجه پایین با بروز بیماری‌های

بیومارکرها، مولکول‌های شاخصی هستند که وضعیت فیزیولوژیکی سلول را در یک زمان مشخص نشان می‌دهند. به همین سبب آن‌ها را مولکول‌های Signpost (تابلوی اعلانات) می‌نامند. زمانی که سلول‌های نرمال طی فرآیند ترانسفورماسیون به سمت سرطانی شدن پیش می‌روند، بیومارکرها متحمل تغییرات اساسی می‌شوند و به همین سبب در تشخیص اولیه سرطان و ریسک پیشروی آن عوامل حیاتی به شمار می‌روند (۵). از جمله بیومارکرهاي حائز اهمیت در مطالعات بالینی، سایتوکین‌ها می‌باشند که از بیومولکول‌های حیاتی در فرآیند التهاب می‌باشند. نظر به این که بیش از ۲۰٪ سرطان‌ها در ارتباط با التهاب مزمن است و اغلب تومورهای جامد مانند تومور سینه شامل روندهای التهابی می‌باشند، سایتوکین‌ها می‌توانند در بررسی سرطان پستان نقش مؤثری داشته باشند (۶).

سایتوکین‌ها معمولاً در ۲ دسته سایتوکین‌های پیش التهابی و سایتوکین‌های ضد التهابی قرار می‌گیرند (۷). یکی از سایتوکین‌های پیش التهابی بسیار اساسی در سرطان، $TNF-\alpha$ است که اولین بار طی مطالعه بر روی تحلیل بافتی و کاهش وزن بدن شناسایی شد (۸). $TNF-\alpha$ ، یک سایتوکین چندکاره است که نقش اساسی در آپوپتوز، بقای سلول، التهاب و ایمنی سلول ایفا می‌نماید. با وجود نقش‌های ضد توموری فراوان ذکر شده برای این فاکتور، مطالعات اخیر حاکی از ارتباط این فاکتور با برخی بدخیمی‌ها است؛ همچنین سطوح افزایش یافته $TNF-\alpha$ نقش مهمی در بروز عارضه ککسیا (Cachexia) دارد (۸). ککسیا وضعیت نامطلوبی است که در بسیاری از سرطان‌ها مشاهده می‌شود. بر اساس آخرین تعریف موجود، ککسیا، سندرم چندعاملی است که همراه با تحلیل پیش‌رونده توده عضلانی، کم‌خونی، ضعف، کاهش وزن و بی‌اشتهایی می‌باشد (۹). آسیب شناسی ککسیا مرتبط با میزان فاکتورهای پیش التهابی و آپوپتوزی (Apoptosis) مانند $IL-1$ و $TNF-\alpha$ است که به وسیله سیستم ایمنی میزبان و همچنین توسط سلول‌های توموری تولید می‌شود. تولید

بنابراین این تحقیق به منظور بررسی نقش پیشگیرانه ورزش با تأکید آن بر میزان $TNF-\alpha$ و وزن بدن موش‌های مبتلا به سرطان پستان صورت گرفت.

روش بررسی:

این مطالعه از نوع کاربردی و روش تحقیق حاضر از نوع تجربی است. تمامی آزمایش‌ها مطابق دستورالعمل مربوط به آیین‌نامه حمایت از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد (۲۱). انطباق روش پژوهش با دستورالعمل مذکور توسط شورای پژوهشی دانشکده تربیت بدنی و زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان مورد تأیید قرار گرفت. تعداد ۲۴ سر موش بальبی سی ماده ۴-۵ هفته‌ای با وزن 18 ± 2 گرم از لانه حیوانات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران خریداری گردید و به آشیانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان منتقل شدند. حیوانات به تعداد محدود و در قفس‌های جداگانه در اتاقی با دمای 23 ± 1 سانتی‌گراد و رطوبت $50 \pm 3\%$ و شرایط کنترل نور معکوس (۱۲ ساعت روشنایی شبانه و ۱۲ ساعت تاریکی روزانه) نگهداری شدند. غذای حیوانات آب و خوراک مخصوص موش بود که به صورت آزاد و در اختیار هفته‌ای در حدود ۱۸۰ گرم، تا پایان پروتکل در دسترس بود. موش‌های همسان از نظر وزن به ۳ گروه کنترل مثبت (استراحت - تومور، $N=10$) و گروه کنترل منفی (استراحت - سالم، $N=7$)، گروه تجربی (ورزش - تومور، $N=7$) توزیع شدند.

تمام موش‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط زندگی در لانه سازگار شدند و سپس پروتکل تمرینی شروع شد. برنامه تمرینی گروه تجربی بر روی نوار گردان ۶ کاناله به مدت ۱۲ هفته، ۵ روز در هفته به مدت ۴۰ دقیقه بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعدازظهر از سرعت ۴/۱۵ متر بر دقیقه در هفته اول شروع و ۸/۲۳ متر بر دقیقه در هفته آخر به پایان رسید (۲۲). ۲۴ ساعت پس از پایان پروتکل اجرایی به منظور سرطانی شدن آزمودنی‌های گروه کنترل مثبت و گروه تجربی از رده سلولی ۴T۱ استفاده شد که به صورت زیر جلدی در

مژمن، ورزش منظم موجب بالا رفتن میزان برخی سایتوکین‌های ضدالتهابی و کاهش سطح سایتوکین‌های پیش‌التهابی همچون $TNF-\alpha$ می‌شود (۱۷). Timmerman و همکاران در مورد تأثیر تمرینات ورزشی بر سیستم ایمنی نشان دادند که تمرینات ورزشی منظم به مدت ۱۲ هفته موجب کاهش تولید سایتوکین‌های $TNF-\alpha$ و IL-6 می‌شود (۱۸).

محققین نشان دادند تمرینات ورزشی منظم موجب کاهش بیان گیرنده‌های $TLR-2$ (Toll-like receptor) و $TLR-4$ بر روی مونسیت‌ها می‌شود. این گیرنده‌ها بیان سایتوکین‌های پیش‌التهابی را منجر می‌شوند که نتیجه‌ای مثبت از دوره‌های فعالیت طولانی‌مدت است (۱۹). مطالعات نشان داده‌اند که ورزش می‌تواند تأثیرات بازدارندگی خود بر روی سرطان را در بسیاری از مراحل مختلف فرآیند سرطان‌زایی از جمله آغاز و پیشروی تومور اعمال نماید؛ همچنین فعالیت بدنی می‌تواند از طریق تغییر فعالیت کارسینوژن‌ها شروع فرآیند تومورزایی را متوقف نماید. این عمل با تقویت سیستم سیتوکروم P450 و نیز به وسیله افزایش آنزیم‌های دخیل در مسیر سم‌زدایی کارسینوژن‌ها صورت می‌گیرد. به علاوه، ورزش ممکن است آسیب‌های اکسیداتیو را از طریق افزایش طیفی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تقویت سیستم‌های ترمیم DNA و بهبود سیستم‌های ترمیم پروتئینی داخل سلول کاهش دهد. علاوه بر تغییر فرایندهای مربوط به آغاز تومورزایی، ورزش می‌تواند اثرات ضد سرطانی خود را از طریق تضعیف فرایندهای دخیل در پیشرفت مراحل مختلف سرطان‌زایی اعمال نماید که این مراحل شامل تغییر در روند تکثیر سلول، آپوپتوز، تمایز سلول، کاهش هورمون‌های جنسی و متابولیسم، کاهش التهاب، تقویت عملکرد سیستم ایمنی و سرکوب رگ‌زایی می‌باشد (۲۰).

با توجه به نقش هر یک از عوامل ذکر شده در پاتوژنز سرطان و گزارش محققان مبنی بر تأثیر فعالیت ورزشی بر کاهش میزان $TNF-\alpha$ و وزن بدن موش‌ها

ناحیه سینه تزریق گردید. رده سلولی 4T1 بر طبق پروتکل ATCC کشت داده شد (۲۳). سلول‌ها به فلاکس‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع انتقال داده شدند و پس از رشد در محیط کشت PRMI ۱۶۴۰ پاساژ داده شدند. برای پاساژ سلول‌ها ابتدا محیط کشت تخلیه شد و سلول ۲ بار و هر بار ۲ میلی‌لیتر از محلول PBC شستشو داده شدند؛ سپس تریپسین ۱ میلی‌لیتر به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور برای جدا شدن از سلول‌ها از ته فلاکس اضافه شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت که حاوی سرم FBS ۱۰٪ است، به آن اضافه گردید و در دور rpm ۱۶۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و پلت سلولی در ته فالكون جمع و محیط کشت رویی دور ریخته شد و سلول‌ها به فلاکس‌های ۲۵ سانتی‌متر مربع برای پاساژ منتقل شدند. در انکوباتور CO_2 دار با رطوبت ۹۷٪، CO_2 ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ هفته نگهداری شدند و هر ۲ روز یک‌بار محیط کشت به‌طور کامل عوض می‌شد. محیط کشت شامل RPMI1640 + 10%FBS + 1%NEAA + 1%Pen-Str بود. میزان لاین تزریق شده به هر موش 1×10^6 بود. ۳ هفته پس از تزریق لاین سرطانی، تومور در ناحیه‌ی بین گردن و سینه دیده شد. پس از پیدایش تومور در ناحیه مورد نظر خون‌گیری از بطن قلب موش‌ها صورت گرفت. نمونه خون به‌منظور سنجش فاکتور نکروز کننده تومور آلفا ($TNF-\alpha$) استفاده شد و روش الیزا و با کیت دارای حساسیت زیاد ساخت شرکت R and D

آمریکا به کار گرفته شد. وزن موش‌ها از ابتدا تا انتهای تحقیق به‌صورت مکرر اندازه‌گیری شد. به‌گونه‌ای که قبل از شروع پروتکل و در طول پروتکل (۲ هفته یک‌بار)، زمان تزریق لاین سرطانی، پیدایش تومور و ۲ هفته پس از پیدایش تومور توسط ترازوی دیجیتالی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف جهت بررسی طبیعی بودن توزیع داده‌ها و از تحلیل واریانس یک طرفه و تحلیل واریانس اندازه‌های تکراری به منظور مقایسه تغییرات $TNF-\alpha$ و وزن در بین گروه‌ها استفاده شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها:

به منظور مقایسه میانگین‌های $TNF-\alpha$ ۳ گروه از تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد. نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در سطوح $TNF-\alpha$ بین گروه‌های کنترل مثبت و منفی ($P=0/001$) و نیز کنترل مثبت و تجربی وجود دارد ($P=0/030$)، به طوری که میانگین نمرات $TNF-\alpha$ در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/030$)، ولی در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شماره ۱). ضمناً به منظور بررسی مقادیر $TNF-\alpha$ بین ۲ گروه از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱: میانگین و انحراف معیار نمرات فاکتور نکروز کننده تومور آلفا ($TNF-\alpha$)

گروه	میانگین \pm انحراف معیار $TNF-\alpha$	F	P
(پیکوگرم بر میلی لیتر)			
کنترل منفی	$12/45 \pm 0/06$	9/09	0/001
کنترل مثبت	$13/57 \pm 0/26$		
تجربی	$12/81 \pm 0/05$		

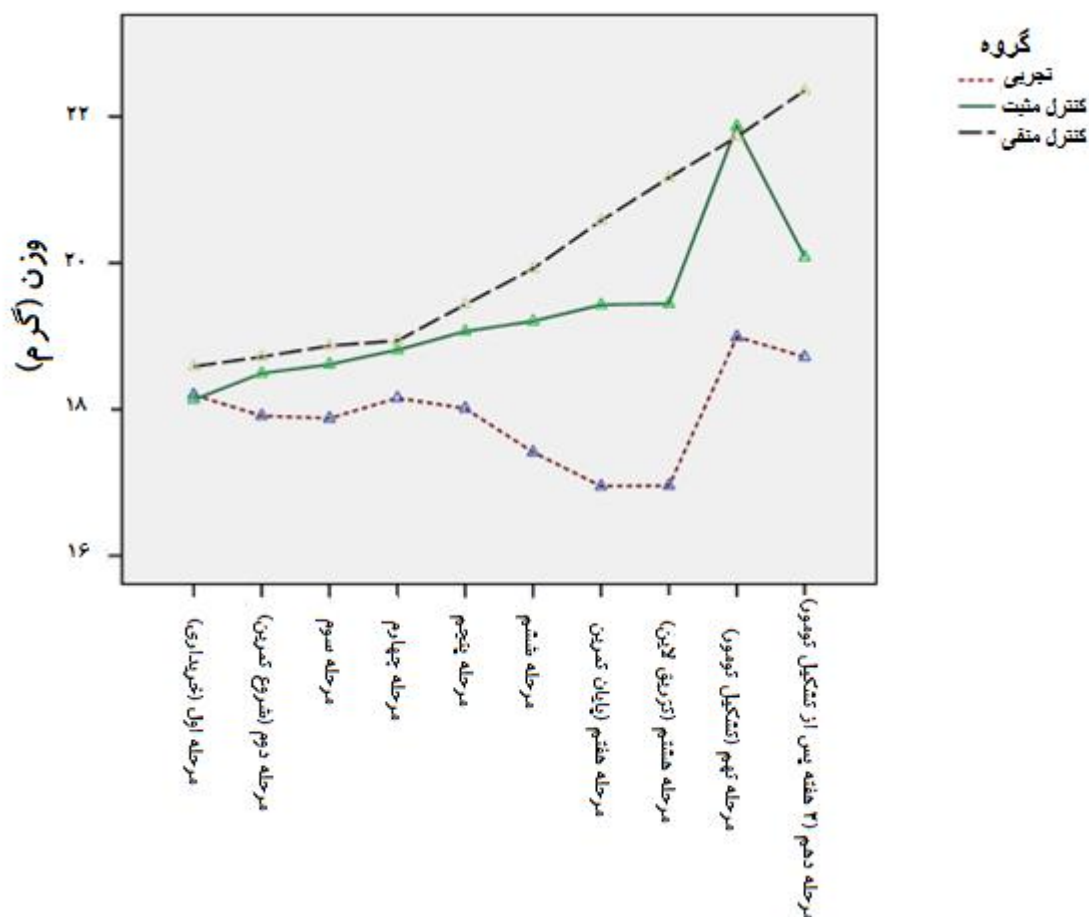
جدول شماره ۲: آزمون تعقیبی به منظور مقایسه میانگین $TNF-\alpha$ بین گروه‌ها

گروه	میانگین \pm انحراف معیار	P
کنترل منفی	کنترل مثبت	۰/۰۰۱
تجربی	تجربی	۰/۴۴۵
تجربی	کنترل مثبت	۰/۰۳۰

* $p < ۰/۰۵$ معنی دار است

گروه تجربی افزایش وزن معنی‌داری نسبت به گروه کنترل منفی دیده می‌شود. در مرحله تشکیل تومور تا ۲ هفته پس از آن کاهش وزن در گروه کنترل مثبت و تجربی مشاهده می‌شود. علت احتمالی کاهش وزن را می‌توان به عارضه‌ی ککسیا ناشی از سرطان نسبت داد. تفاوت معنی‌داری در میزان تغییرات وزن در این مرحله بین گروه تجربی و کنترل مثبت مشاهده شد ($P=۰/۰۳۸$).

به منظور مقایسه تغییرات وزن در مراحل مختلف اندازه‌گیری بین ۳ گروه از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شد. همان‌گونه که در تصویر شماره ۱ مشاهده می‌شود، میانگین نمرات وزن موش‌ها در گروه تجربی، نسبت به ۲ گروه کنترل منفی و مثبت قبل از تشکیل تومور کاهش یافته است. در مرحله تزریق لاین تا تشکیل تومور در گروه کنترل مثبت و



تصویر شماره ۱: مقایسه میانگین نمرات وزن موش‌ها در ۳ گروه کنترل منفی، مثبت و تجربی

بحث:

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ۱۲ هفته تمرین استقامتی با شدت متوسط به تغییرات معنی‌داری در جهت کاهش $TNF-\alpha$ و تغییرات وزن منجر می‌شود. میانگین $TNF-\alpha$ در گروه تجربی $12/81 \pm 0/05$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و در گروه کنترل مثبت $13/57 \pm 0/26$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر و در گروه کنترل منفی $12/45 \pm 0/06$ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود. میزان غلظت سرمی فاکتور نکروز کننده توموری آلفا در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/030$)، ولی در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل منفی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مقایسه وزن در مراحل مختلف نشان داد که در مرحله تشکیل تومور و ۲ هفته پس از تشکیل تومور کاهش معنی‌داری در وزن موش‌های گروه تجربی و کنترل مثبت ناشی از ککسیا مشاهده شد. کاهش وزن ناشی از ککسیا در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل مثبت به طور معنی‌داری کمتر بود ($0/147\%$). بر اساس گزارش Battaglini و همکاران، فعالیت با کاهش سایتوکین‌های التهابی همچون $TNF-\alpha$ و افزایش سایتوکین‌های ضد التهابی از ککسیا ایجاد شده ناشی از سرطان جلوگیری می‌کند (۲۴). از سوی دیگر، Timmerman و همکاران نشان دادند که تمرینات ورزشی منجر به کاهش مونوسیت‌های در گردش می‌شود و در نتیجه از افزایش عوامل التهابی جلوگیری می‌کند (۱۸). بر اساس گزارش Fallon و همکاران، ورزش منظم موجب افزایش سطح برخی سایتوکین‌های ضد التهابی و کاهش سطح سایتوکین‌های پیش التهابی نظیر $TNF-\alpha$ می‌شود (۱۷). Murphy و همکاران کاهش حجم تومور ایجاد شده پس از یک دوره تمرینات هوازی را به کاهش سایتوکین‌های پیش التهابی نسبت دادند (۲۵).

از مکانیسم‌های دخیل فعالیت بدنی که موجب کاهش ریسک سرطان می‌شود، می‌توان به کاهش

التهاب که از نظر آسیب شناسی با بیماری‌زایی سرطان در ارتباط می‌باشد، اشاره نمود (۲۶).

$TNF-\alpha$ سایتوکین پیش التهابی دخیل در التهاب سیستمیک است که قادر به القا تب، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، ککسیا، التهاب، سرکوب تومورزایی، تکثیر ویروس و پاسخ به عفونت می‌باشد (۲۷). مطالعات اخیر نشان داده که تیمار سلول‌های سرطان پستان با $TNF-\alpha$ تکثیر سلولی را افزایش می‌دهد. بررسی‌های ابتدایی بر روی مسیرهای پایین دستی که $TNF-\alpha$ از طریق آن‌ها باعث القای تکثیر می‌شود، نشان داد که $TNF-\alpha$ از طریق مسیر NF-KB عمل کرده و باعث افزایش بیان CyclinD1 (سای کلین دی یک) می‌شود (۲۸). در بسیاری از موارد، اتصال $TNF-\alpha$ به TNFR1 (Tumor necrosis factor receptor 1) مسیر رونویسی NF-KB را فعال می‌کند که این فعال سازی باعث مهار آپوپتوز از طریق فرا خوانی پروتئین سلولی بازدارنده آپوپتوز ۱ (IAP-1) می‌شود (۶). سرکوب فعالیت NF-KB تا حدی منجر به افزایش حساسیت سلولی نسبت به القای آپوپتوز توسط $TNF-\alpha$ می‌شود (۲۸).

تجمع چربی، به ویژه در ناحیه شکم، کبد و ماهیچه، با افزایش خطر مرگ و ابتلا به چندین بیماری از جمله برخی سرطان‌ها مرتبط است (۲۹،۳۰). گسترش بافت چربی منجر به افزایش تولید آدیپوکین‌های پیش التهابی و برعکس، کاهش مقدار سایتوکین‌های ضد التهابی می‌شود (۳۱). این حالت منجر به ایجاد التهاب سیستمیک درجه پایین پایدار می‌شود (۳۲). ورزش منظم قادر است به طور چشمگیری سبب کاهش چربی احشایی و شکمی، حتی بدون هیچ‌گونه کاهش وزنی و همچنین منجر به افزایش سطوح در گردش آدیپونکتین و کاهش سطح چندین آدیپوکین پیش التهابی از جمله $TNF-\alpha$ شود (۳۳-۳۶)؛ لذا افزایش فعالیت فیزیکی می‌تواند منجر به کاهش التهاب سیستمیک از طریق کاهش ترشح آدیپوکین‌های پیش التهابی شود که در واقع این عمل نتیجه تأثیر مستقیم ورزش بر کاهش ذخیره چربی می‌باشد (۳۲).

گیرنده‌های TLR نقش مهمی را در سیستم ایمنی بدن از طریق شناخت و آغاز یک پاسخ التهابی به مولکول‌های خطرناک ایفا می‌کنند که منجر به رونویسی از سایتوکین‌ها و کموکاین‌ها می‌گردد. فعال شدن TLR ها می‌تواند موجب افزایش سطح سایتوکین‌های پیش التهابی و کموکاین‌ها شود. مطالعات نشان داده اند تمرینات ورزشی منظم موجب کاهش بیان گیرنده‌های TLR-2- و TLR-4 بر روی مونوسیت‌ها می‌شوند و با توجه به این که این گیرنده‌ها موجب بیان سایتوکین‌های پیش التهابی می‌شوند، نتیجه گرفتند که این عمل ممکن است نتیجه مثبت شرکت در فعالیت‌هایی با دوره‌های طولانی مدت باشد (۱۹). از سوی دیگر، گزارش شده که تمرینات ورزشی موجب کاهش مونوسیت‌های در گردش می‌شود و در نتیجه از افزایش عوامل التهابی جلوگیری می‌نماید (۱۸).

اضافه وزن و چاقی با بیماری‌های متعددی از جمله سرطان پستان در ارتباط می‌باشد. فعالیت بدنی منظم و نگهداری وزن بدن در حد مناسب، از مؤلفه‌های کلیدی پیشگیری از سرطان می‌باشد. گزارش شده که ۱۹-۹٪ سرطان‌ها به علت بی تحرکی و ۳۰٪ به علت چاقی است؛ لذا می‌توان با فعالیت بدنی و سبک زندگی فعالانه از ۵۰٪ سرطان‌ها پیشگیری کرد (۳۷، ۳۸). درمورد سرطان سینه، اثر اضافه وزن بر حسب سن متفاوت می‌باشد. اضافه وزن در ابتدای دوره بلوغ جنسی خطر ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهد، ولی افزایش وزن در سنین بالا و به خصوص بعد از یائسگی، منجر به افزایش سطح استروژن و افزایش خطر ابتلا به سرطان می‌گردد (۳۹). عدم تحرک منجر به تجمع چربی احشایی شده و به دنبال آن با نفوذ سلول‌های ایمنی پیش التهابی به بافت چربی، ترشح آدیوکین‌ها افزایش می‌یابد. محققین به این نتیجه رسیده‌اند که هر ۵ کیلوگرم بر مترمربع افزایش در BMI (شاخص توده بدن) احتمال ابتلا به سرطان سینه پس از یائسگی را ۱۲٪ افزایش می‌دهد (۳۱). همگام با این یافته‌ها، یک مطالعه آزمایشگاهی از زنان یائسه دارای اضافه وزن نشان

می‌دهد که کاهش وزن موجب تغییرات مطلوب در بافت سینه و ریسک فاکتور سرمی می‌شود (۳۹). نوری و همکاران با بررسی اثر فعالیت ورزشی ترکیبی بر تغییرات وزن زنان یائسه مبتلا به سرطان پستان، به این نتیجه رسیدند که ۱۵ هفته تمرینات استقامتی و مقاومتی موجب کاهش وزن بدن و BMI شد (۴۰). Hoffman و همکاران اثر ورزش را بر میزان رشد تومور و وزن رت‌های مبتلا به سرطان سینه بررسی کردند. تمرینات ورزشی شامل یک دوره سبک با شروع ۲۰ دقیقه و افزایش ۲۰ دقیقه در روز تا حداکثر ۴ ساعت بود. قبل از تمرین در آب، رت‌ها مسافت ۲۰ فوت بر روی تردمیل دویدند و پس از تمرینات در آب به میزان ۵/۴ مایل هر ۱۲ ساعت هر شب در یک گردان به حرکت درآمدند. نتایج کاهش رشد و وزن تومور و همچنین افزایش وزن بدن حیوان را در گروه ورزشی نشان داد (۴۱).

روند تغییرات وزن در گروه کنترل منفی از مرحله اول تا مرحله دهم سیر صعودی را نشان می‌دهد. این افزایش وزن دیده شده را می‌توان ناشی از عدم تحرک در آزمودنی‌ها دانست. روند تغییرات وزن در گروه کنترل مثبت از مرحله اول تا مرحله دهم افزایش اندکی را نشان می‌دهد. این افزایش اندک ناشی از عدم فعالیت بدنی و کم تحرکی آزمودنی‌ها می‌باشد. روند تغییرات وزن در گروه تجربی از مرحله اول تا مرحله دهم سیر نزولی را نشان می‌دهد که ناشی از فعالیت استقامتی ۱۲ هفته‌ای است که منجر به کاهش وزن در گروه تجربی شده است.

ایمنی غیر اختصاصی موجب حفاظت بدن به واسطه محدود کردن عوامل بیماری‌زا و یا با آماده کردن بدن میزبان در جهت ایجاد شرایط محیطی نامناسب برای گروه وسیعی از عوامل بیماری‌زا می‌باشد. تعداد انبوهی از عوامل بیماری‌زا موجب پاسخ ایمنی یکسانی می‌شوند. هنگامی که یک باکتری وارد بدن می‌شود، اولین پاسخ ایجاد شده همان التهاب می‌باشد. این اثرات به صورت سیستمیک در بدن میزبان روی می‌دهد و می‌تواند در سراسر بدن نیز این اثر را اعمال

می‌شود، می‌باشد. افزایش سطح $TNF-\alpha$ و دیگر فاکتورهای التهابی باعث تغییرات متابولیکی از جمله کاهش وزن و کاهش جذب غذا می‌شوند (۴۴).

نتیجه گیری:

به طور کلی با استناد به موارد فوق و نتایج داده‌های این پژوهش شاید بتوان نتیجه گرفت که کاهش میزان سطح $TNF-\alpha$ و متعاقباً کاهش وزن بدن موش‌ها، نتیجه مثبت تمرینات استقامتی با شدت متوسط باشد. در انتها پیشنهاد می‌شود با توجه به نقش مهم فعالیت ورزشی در تأثیرگذاری بیومارکرهای مؤثر در سرطان، پژوهش‌های بیشتری در زمینه پیشگیری انواع فعالیت ورزشی بر این فاکتورها بر بیماران مبتلا به سرطان انجام گردد.

تشکر و قدر دانی:

این گزارش برون داد یک پروژه پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی ورزش دانشگاه اصفهان است (کد رهگیری طرح: ۱۱۶۲۳۳۴). نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از سرکار خانم پگاه میرزائیان به جهت همیاری صمیمانه طی مراحل مختلف انجام پژوهش ابراز می‌نمایند.

کند. پس از پاسخ‌های التهابی، حیوانات اغلب مجبور به تحمل رشد جبرانی می‌شوند که در خلال این عمل، مواد مغذی مورد نیاز حیوان افزایش می‌یابد. مواد مغذی برای ساختن سدهایی در جهت حفاظت سلول‌ها و بافت‌ها در برابر عوامل مهاجم خارجی مورد نیاز هستند. این سدها به عنوان ایمنی غیر اختصاصی می‌باشد. افزایش وزن پس از تزریق لاین سرطانی در گروه تجربی و کنترل مثبت را می‌توان به علل احتمالی زیر نسبت داد. در هنگام تزریق لاین سرطانی، فعالیت سیستم ایمنی افزایش می‌یابد که نیازمند انرژی و ATP بیشتر است. این انرژی بیشتر از طریق سوختن بیشتر مواد نیاز است که از طریق میزان تغذیه بیشتر فراهم می‌گردد که پیامد آن افزایش وزن می‌باشد (۴۲، ۴۳).

علل احتمالی کاهش وزن پس از تشکیل تومور و پس از آن در هر ۲ گروه تجربی و کنترل مثبت را می‌توان به یکی از عارضه‌های منتج از سرطان یعنی ککسیا نسبت داد که از شاخصه‌های آن کاهش وزن، ضعف و کم خونی ناشی از رشد و حضور تومور بوده که موجب سوء تغذیه و کاهش جذب غذا می‌گردد. به دنبال رقابت بر سر مواد غذایی میان تومور و بافت میزبان، اختلالات متابولیکی از جمله افزایش متابولیسم ایجاد می‌گردد؛ همچنین ککسیا مرتبط با میزان فاکتورهای پیش التهابی نظیر $TNF-\alpha$ که هم توسط سیستم ایمنی میزبان و هم سلول‌های توموری ایجاد

منابع:

1. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. BMJ. 2000; 321(7261): 624-8.
2. Kruk J, Aboul-Enein HY. Psychological stress and the risk of breast cancer: A case-control study. Cancer Detect Prev. 2004; 28(6): 399-408.
3. Lanari C, Luthy I, Lamb CA, Fabris V, Pagano E, Helguero LA, et al. Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: *In vivo* and *in vitro* effects of estrogens and progestins. Cancer Res. 2001; 61(1): 293-302.
4. R Richie RC, Swanson JO. Breast cancer: A review of the literature. J Insur Med . 2003; 35(2): 85-101.
5. Srinivas PR, Kramer BS, Srivastava S. Trends in biomarker research for cancer detection. Lancet Oncol. 2001; 2(11): 698-704.
6. Grivennikov SI, Karin M. Inflammatory cytokines in cancer: Tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. Ann Rheum Dis. 2011; 70(1): i104-8.

7. Cavaillon JM. Pro-versus anti-inflammatory cytokines: Myth or reality. *Cell Mol Biol*. 2001; 47(4): 695-702.
8. Yeh SS, Schuster MW. Geriatric cachexia: The role of cytokines. *Am J Clin Nutr*. 1999; 70(2): 183-97.
9. Evans WJ, Morley JE, Argiles J, Bales C, Baracos V, Guttridge D, et al. Cachexia: A new definition. *Clin Nutr*. 2008; 27(6): 793-9.
10. Stofkova A. Cachexia-The Interplay Between the Immune System, Brain Control and Metabolism. INTECH Open Access Pub; 2012.
11. Kacha AK, Fallarino F, Markiewicz MA, Gajewski TF. Cutting edge: Spontaneous rejection of poorly immunogenic P1.HTR tumors by Stat6-deficient mice. *J Immunol*. 2000; 165(11): 6024-8.
12. Banfi G, Dolci A, Verna R, Corsi MM. Exercise raises serum heat-shock protein 70 (Hsp70) levels. *Clin Chem Lab Med*. 2004; 42(12): 1445-6.
13. Lee IM. Physical activity and cancer prevention--data from epidemiologic studies. *Med Sci Sports Exerc*. 2003; 35(11): 1823-7.
14. Brines R, Hoffman-Goetz L, Pedersen BK. Can you exercise to make your immune system fitter? *Immunol Today*. 1996; 17(6): 252-4.
15. Agha AH, Toufighi A, Mohammad HZ, Mahdavi M, Shahrokhi S. The effect of continuous aerobic exercise on the rate of hsp70 in mice with breast cancer tumor. *Olympic* 2008; 8: 45-51.
16. Asea A, Rehli M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular HSP70: Role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *J Biol Chem*. 2002; 277(17): 15028-34.
17. Fallon KE, Fallon SK, Boston T. The acute phase response and exercise: Court and field sports. *Br J Sports Med*. 2001; 35(3): 170-3.
18. Timmerman KL, Flynn MG, Coen PM, Markofski MM, Pence BD. Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14+CD16+) monocytes: A role in the anti-inflammatory influence of exercise? *J Leukoc Biol*. 2008; 84(5): 1271-8.
19. Stewart LK, Flynn MG, Campbell WW, Craig BA, Robinson JP, McFarlin BK, et al. Influence of exercise training and age on CD14+ cell-surface expression of toll-like receptor 2 and 4. *Brain Behav Immun*. 2005; 19(5): 389-97.
20. Rogers CJ, Colbert LH, Greiner JW, Perkins SN, Hursting SD. Physical activity and cancer prevention: Pathways and targets for intervention. *Sports Med*. 2008; 38(4): 271-96.
21. Olfert ED, Cross BM, McWilliam AA, editors. Guide to the care and use of experimental animals. Ottawa: Canadian Council on Animal Care; 1993.
22. Aghaalinejad H, Alizadeh S, Kazmi A, Minayi N, Shokrolahi F. The effect of endurance training on the level of tissue IL-6 and VEGF in mice with breast cancer. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2014; 16(2): 10-21.
23. Esmaeilzadeh A, Ebtakar M, Biglari A, Saraf S. Anti-proliferative effect of rmIL-27 protein on 4T1 mouse breast cancer cells as a candidate for cancer immunotherapy. *ZUMS J*. 2014; 22(91): 52-60.
24. Battaglini CL, Hackney AC, Goodwin ML. Cancer cachexia: Muscle physiology and exercise training. *Cancers*. 2012; 4(4): 1247-51.
25. Murphy EA, Davis JM, Barrilleaux TL, McClellan JL, Steiner JL, Carmichael MD, et al. Benefits of exercise training on breast cancer progression and inflammation in C3(1)SV40Tag mice. *Cytokine*. 2011; 55(2): 274-9.
26. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006; 444(7121): 860-7.
27. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001; 104(4): 487-501.
28. Goldberg JE, Schwertfeger KL. Proinflammatory cytokines in breast cancer: Mechanisms of action and potential targets for therapeutics. *Curr Drug Targets*. 2010; 11(9): 1133-46.
29. Pischon T, Boeing H, Hoffmann K, Bergmann M, Schulze MB, Overvad K, et al. General and abdominal adiposity and risk of death in Europe. *N Engl J Med*. 2008; 359(20): 2105-20.
30. Xue F, Michels KB. Diabetes, metabolic syndrome, and breast cancer: A review of the current evidence. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86(3): s823-35.

31. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011; 11(2): 85-97.
32. Yudkin JS. Inflammation, obesity, and the metabolic syndrome. *Horm Metab Res*. 2007; 39(10): 707-9.
33. Ross R, Bradshaw AJ. The future of obesity reduction: Beyond weight loss. *Nat Rev Endocrinol*. 2009; 5(6): 319-25.
34. Mujumdar PP, Duerksen-Hughes PJ, Firek AF, Hessinger DA. Long-term, progressive, aerobic training increases adiponectin in middle-aged, overweight, untrained males and females. *Scand J Clin Lab Invest*. 2011; 71(2): 101-7.
35. Ben Ounis O, Elloumi M, Lac G, Makni E, Van Praagh E, Zouhal H, et al. Two-month effects of individualized exercise training with or without caloric restriction on plasma adipocytokine levels in obese female adolescents. *Ann Endocrinol*. 2009; 70(4): 235-41.
36. Lim S, Choi SH, Jeong IK, Kim JH, Moon MK, Park KS, et al. Insulin-sensitizing effects of exercise on adiponectin and retinol-binding protein-4 concentrations in young and middle-aged women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93(6): 2263-8.
37. Friedenreich CM, Neilson HK, Lynch BM. State of the epidemiological evidence on physical activity and cancer prevention. *Eur J Cancer*. 2010; 46(14): 2593-604.
38. Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Lifestyle as risk factor for cancer: Evidence from human studies. *Cancer lett*. 2010; 293(2): 133-43.
39. Colditz GA, Bohlke K. Priorities for the primary prevention of breast cancer. *CA: A cancer J Clin*. 2014; 64(3): 186-94.
40. Nuri R, Damirchi A, Rahmani-Nia F, Rahnema N, Emami H. Effect of exercise training on bone mineral density in postmenopausal women with breast cancer. *British J Sports Med*. 2010; 44(Suppl 1): i63-i.
41. Hoffman S, Paschkis K, DeBias D, Cantarow A, Williams T. The influence of exercise on the growth of transplanted rat tumors. *Cancer R*. 1962; 22(5 Part 1): 597-9.
42. Wolowczuk I, Verwaerde C, Viltart O, Delanoye A, Delacre M, Pot B, et al. Feeding our immune system: impact on metabolism. *Clin Develop Immunol*. 2008, 2008.
43. Benson BN, Calvert C, Roura E, Klasing K. Dietary energy source and density modulate the expression of immunologic stress in chicks. *J Nutr*. 1993; 123(10): 1714.
44. Aoyagi T, Terracina KP, Raza A, Matsubara H, Takabe K. Cancer cachexia, mechanism and treatment. *World J gastrointest oncol*. 2015; 7(4): 17.

Changes in serum concentration of TNF- α cancerous mice after a period of moderate endurance exercise

Shareeyati Vaziri M¹, Esfarjani F², Moshtaghian SJ^{3*}, Ghorbani N⁴

¹Student, Exercise Physiology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; ²Exercise Physiology Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; ³Biology Dept., School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran; ⁴Laboratory Sciences Dept., University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 27/Nov/2015 Accepted: 30/Mar/2016

Background and aims: Endurance training has a potential ability to prevent breast cancer by strengthening the immune system and reducing inflammation, and can reduce cachexia which is effects of cancer in advanced stages. This study aims to investigate the effect of endurance training with moderate intensity on the serum levels of TNF- α and weight of the mice suffered from breast cancer.

Methods: 24 female BALB/c mice were randomly allocated to 3 groups: negative control (Rest-Healthy); positive control (Rest-Tumor) and experimental (Exercise-Tumor) groups. The experimental group carried out the continuous endurance exercise 5 days per week for 12 weeks. Training intensity was begun from 15.4 meter per minutes in the first week and gradually raised up to 23.8 meters per minutes in the last week. 24 hours after the end of training program, the 4T1 cancer cell line was injected subcutaneously to mice in positive control and experimental groups. After tumor formation, TNF- α concentration was measured by ELISA. The weight of mice was measured regularly from the beginning to the end of the study after each two-week training period subsequently.

Results: The Mean of TNF- α in the experimental group as compared to the positive control decreased significantly ($P=0.030$), but there was no significant difference between experimental and negative control groups. The mean of weight of rats in the experimental group was significantly lower than both positive and negative control groups during tumor formation and after two weeks was lower compared to positive control group.

Conclusion: It seems that participating in moderate-intensity training can play a role by decreasing the cytokine TNF- α and cachexia to prevent breast cancer.

Keywords: Endurance training, Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α), Breast Cancer.

Cite this article as: Shareeyati Vaziri M, Esfarjani F, Moshtaghian SJ, Ghorbani N. Changes in serum concentration of TNF- α cancerous mice after a period of moderate endurance exercise. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(5): 44-54.

***Corresponding author:**

Biology Dept., School of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, I.R. Iran. Tel: 00983538283719,
E-mail: jamalmoshtaghian@gmail.com